

# Opóźniona neutropenia po chemioimmunoterapii i radioterapii u chorego z chłoniakiem pierwotnym śródpiersia

Late-onset neutropenia after chemioimmunotherapy and  
radiotherapy in a patient with primary mediastinal lymphoma

Agnieszka Giza, Aleksander B. Skotnicki

Katedra i Klinika Hematologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

## Streszczenie

Przedstawiono opis przypadku dotyczący 30-letniego chorego z rozpoznaniem chłoniaka pierwotnego śródpiersia (PMBCL), którego poddano 8 cyklom chemioimmunoterapii z zastosowaniem rytuksymabu w połączeniu z 14-dniowym schematem CHOP (R-CHOP-14), a następnie radioterapii śródpiersia. Dwa miesiące po zakończonym leczeniu w badaniu morfologii krwi stwierdzono u chorego granulocytopenię, która utrzymywała się przez 2 miesiące. Wyniki badania histopatologicznego szpiku kostnego i subpopulacji limfocytów krwi obwodowej oraz wykluczenie infekcji wirusowych sugerowały immunologiczny mechanizm granulocytopenii indukowanej rytuksymabem. Przejściowy wzrost liczby leukocytów uzyskano po zastosowaniu granulocytarnego czynnika wzrostu (G-CSF), natomiast trwałą normalizację obrazu krwi obwodowej — po krótkotrwałej kortykosteroidoterapii. Dwa lata i 4 miesiące po zakończonym leczeniu u pacjenta stwierdza się całkowitą remisję choroby i prawidłowy obraz krwi obwodowej.

**Słowa kluczowe:** chłoniak pierwotny śródpiersia, rytuksymab, opóźniona neutropenia

*Hematologia 2010; 1: 180–184*

## Abstract

We describe a case report of 30-years-old man with a diagnosis of primary mediastinal B-cell lymphoma (PMBCL) who received 8 cycles of chemioimmunotherapy consisting with rituximab and CHOP every 14 days (R-CHOP-14) and subsequent mediastinal irradiation. Two months after the completion of treatment a profound neutropenia was noted which lasted for 2 months. Trepine biopsy of the bone marrow and subpopulation of peripheral blood lymphocytes as well as negative viruses tests suggested immunologic mechanism of rituximab-induced neutropenia. Transient increasing of neutrophil number was observed after granulocyte-specific colony-stimulating factor (G-CSF) treatment but full recovery of neutrophil count was obtained after short course of steroids administration. Two years and 4 months after completion of treatment, the complete remission of the disease and normal peripheral blood counts were confirmed.

**Key words:** primary mediastinal lymphoma, rituximab, late-onset neutropenia

*Hematologia 2010; 1: 180–184*

## Wprowadzenie

Chłoniak pierwotny śródpiersia (PMBCL, *primary mediastinal B-cell lymphoma*) stanowi około 2% wszystkich chłoniaków. Najczęściej występuje u kobiet w 3.–4. dekadzie życia. Masa węzłowa, często przekraczająca 10 cm, lokalizuje się głównie w śródpiersiu przednim oraz ma tendencję do naciekania narządów sąsiednich, w tym płuc, opłucnej, osierdza, serca i ściany klatki piersiowej. Rzadko w chwili rozpoznania stwierdza się lokalizacje pozawęzłową choroby. Rozsiew poza klatkę piersiową, w tym do ośrodkowego układu nerwowego i nerek, częściej stwierdza się w przypadku nawrotu choroby. W momencie rozpoznania chorzy są często w złym stanie klinicznym; u około połowy stwierdza się zespół żyły próżnej górnej. Ze względu na małą częstość występowania PMBCL nie przeprowadzono, jak dotąd, prospektywnych badań randomizowanych, a tym samym optymalny schemat leczenia pierwszej linii nie został ustalony.

## Opis przypadku

W marcu 2007 roku do Kliniki Hematologii CMUJ został przyjęty 30-letni pacjent, mężczyzna, z rozpoznaniem PMBCL, którego dokonano na podstawie badania histopatologicznego wycinka z guza śródpiersia. U chorego od około miesiąca występowały stany podgorączkowe i wzmożona potliwość nocna. W chwili przyjęcia do Kliniki pacjent był w stanie ogólnym ciężkim z objawami zespołu żyły próżnej górnej. Stan sprawności, według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*), oceniono na III stopień. W badaniu przedmiotowym stwierdzono częstość oddechów 40/min i poszerzenie żył szyjnych; nie stwierdzono powiększonych węzłów chłonnych obwodowych ani powiększonej wątroby i śledziony. W badaniach laboratoryjnych wykazano znacznie podwyższoną aktywność dehydrogenazy mleczanowej (2628 j./l). W tomografii komputerowej (CT, *computed tomography*) klatki piersiowej w przednim górnym śródpiersiu, do przodu od żyły próżnej górnej, lewej żyły ramienno-głowej, części wstępującej aorty, pnia płucnego i lewej tętnicy płucnej, uwidoczniono lite masy o wymiarach 130 × 150 × 35 mm, ulegające wzmocnieniu kontrastowemu. W badaniu histopatologicznym trepanobiopsatu szpiku kostnego nie stwierdzono nacieku chłoniaka. Stadium zaawansowania choroby oceniono na IIBX, a ryzyko według Międzynarodowego Indeksu Prognostycznego dla wieku poniżej 60 lat (*age-adjusted International Prognostic Index*) — na 3, czyli wysokie.

Pacjent od kwietnia do lipca 2007 roku otrzymał 8 cykli chemioimmunoterapii z zastosowaniem rytuksymabu w połączeniu z 14-dniowym schematem cyklofosfamid, doksorubicyna, winkrystyna i prednizon (CHOP, *cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone*) (R-CHOP-14), stosowanym rutynowo w Klinice Hematologii CMUJ u chorych na PMBCL. Tolerancja leczenia była dobra; nie stwierdzono toksyczności hematologicznej ani narządowej III i IV stopnia według WHO. W badaniu CT klatki piersiowej po 3 cyklach R-CHOP-14 stwierdzono regresję masy guza do około 50%. W badaniu metodą pozytonowej tomografii emisyjnej połączonej z tomografią komputerową (PET-CT, *positron emission tomography-computed tomography*) po 7 cyklach R-CHOP-14 stwierdzono w śródpiersiu górnym masy tkankowe, które jedynie na granicy z łukiem aorty i aortą wstępującą, w obszarze o wymiarach 25 × 15 × 15 mm, wykazywały patologiczny wzrost metabolizmu glukozy, o standaryzowanej wartości wychwytu (SUV, *standardized uptake value*) 3,5, mogący odpowiadać aktywnemu procesowi rozrostowemu. Ostatni — 8. cykl chemioimmunoterapii podano tydzień po wyznaczonym terminie z powodu gorączki neutropenicznej. Pacjent był konsultowany przez radioterapeutów, którzy podjęli decyzję o napromienieniu śródpiersia (IF-RT, *involved-field radiotherapy*) w dawce 36 Gy w 18 frakcjach, ze względu na obecność w badaniu PET-CT zmian o wzmożonym metabolizmie SUV 3,5. W badaniu PET-CT 3 miesiące po zakończeniu radioterapii uwidoczniono na granicy z łukiem aorty i aortą wstępującą obszar o wzroście metabolizmu glukozy SUV do 3 i wymiarach 21 × 10 × 16 mm. Ze względu na widoczną aktywność metaboliczną zalecono kolejne badanie kontrolne metodą PET po 4 miesiącach, które wykazało dalszą regresję metaboliczną zmiany z SUV 2,4.

Po zakończeniu radioterapii śródpiersia chory zgłosił się do ambulatorium z powodu gorączki 38,5 °C oraz bólu w trakcie połykania uniemożliwiającego przyjmowanie pokarmów stałych i płynów. W badaniu przedmiotowym na śluzówkach jamy ustnej stwierdzono białawe naloty, a w badaniu bakteriologicznym wymazu z jamy ustnej wykazano obecność patogenu *Candida albicans*. Posiewy bakteriologiczne i mykologiczne z krwi obwodowej były ujemne. W badaniu morfologii krwi stwierdzono leukopenię (1820/μl), a całość obrazu wskazywała na infekcję grzybiczą przewodu pokarmowego. Po wdrożeniu leczenia przeciwgrzybiczego miejscowego i systemowego dolegliwości ustąpiły. Nadal jednak utrzymywała się leukopenia — 2 miesiące po zakończeniu radioterapii liczba leukocytów wynosiła 1130/μl.

W trepanobiopsacji szpiku kostnego nie stwierdzono nacieku chłoniaka; stosunek układu mieloidalnego do erytroidalnego (M:E) wynosił 1:1,5, a obraz histologiczny w kontekście danych klinicznych mógł przemawiać za neutropenią po chemioradioterapii. Wówczas zastosowano granulocytarny czynnik wzrostu (G-CSF, *granulocyte specific colony-stimulating factor*), uzyskując przejściowy wzrost liczby leukocytów. Po odstawieniu G-CSF 3 miesiące po zakończeniu radioterapii stwierdzono dalsze zmniejszenie liczby leukocytów do wartości  $710/\mu\text{L}$ . W celu wykluczenia infekcji wirusowej jako przyczyny agranulocytozy wykonano badania serologiczne i molekularne na obecność wirusa cytomegalii i Epsteina-Barr — wyniki były negatywne. Wobec nadal stwierdzanej w badaniach morfologii krwi obwodowej neutropenii, 4 miesiące po zakończonym leczeniu wykonano trepanobiopsję szpiku kostnego. Stwierdzono redukcję ilościową linii mieloidalnej (M:E=1:1) oraz skąpą populację granulocytów podzielonych, przy względnym nadmiarze promielocytów, mielocytów i metamielocytów. Obserwowane zmiany mogły być efektem chemioimmunoterapii i radioterapii, ale wobec dość licznych form apoptotycznych do rozważenia pozostawało tło immunologiczne indukowane wtórną aktywacją limfocytów cytotoksycznych. W badaniu subpopulacji limfocytów krwi obwodowej stwierdzono, że limfocyty stanowią 52% całości obrazu krwi obwodowej, stosunek CD4/CD8 wynosił 0,32, limfocyty T CD3+ stanowiły 70%, CD4+ 17%, a CD8+ 53%. Wówczas podjęto próbę leczenia kortykosteroidami (Enkortonem w dawce 1 mg/kg mc.), uzyskując po tygodniu leczenia pełną normalizację obrazu krwi obwodowej.

Obecnie pacjent jest 2 lata i 4 miesiące po zakończeniu leczenia w całkowitej remisji (CR, *complete remission*) choroby, w dobrej kondycji fizycznej i psychicznej, i powrócił do pracy. W kolejnych badaniach kontrolnych CT klatki piersiowej, wykonywanych w 6-miesięcznych odstępach, stwierdza się masę rezidualną w śródpiersiu przednim o wymiarach  $50 \times 16 \times 43$  mm.

## Dyskusja

W leczeniu PMBCL najczęściej stosuje się chemioterapię opartą na antracyklinach, w tym CHOP, która pozwala na uzyskanie dobrych wyników leczenia [1], ale istnieją również dane o przewadze chemioterapii zintensyfikowanej opartej na schematach metotreksat, doksorubicyna, cyklofosfamid, winkrystyna, prednizon, bleomycyna (MACOP-B) i etopozyd, doksorubicyna, cyklofosfamid, winkrystyna,

prednizon, bleomycyna (VACOP-B) [2, 3]. Dyskutowana jest również rola rytuksymabu w leczeniu PMBCL. Wydaje się, że jego zastosowanie w połączeniu z chemioterapią intensywną, jak M/VACOP-B, nie wpływa na długość życia wolnego od progresji choroby (PFS, *progression free survival*) czy całkowity czas przeżycia (OS, *overall survival*) [4]. Natomiast rytuksymab dodany do chemioterapii CHOP wydaje się znacząco wydłużać OS i PFS w porównaniu z samą chemioterapią CHOP [5, 6].

Rozważa się także znaczenie radioterapii śródpiersia, stosowanej jako uzupełnienie chemioimmunoterapii pierwszej linii. U wielu pacjentów z częściową remisją (PR, *partial remission*) choroby po leczeniu pierwszej linii obserwowano po napromienianiu śródpiersia „poprawę” jakości odpowiedzi, do CR włącznie. Nie ma jednak jednoznacznych danych o wpływie radioterapii śródpiersia, stosowanej jako konsolidacja CR, na PFS i OS. Coraz częściej podnoszona jest rola badania PET-CT w wyodrębnieniu grupy chorych, która odniosłaby największą korzyść z radioterapii śródpiersia, a być może pozwoliłaby zmniejszyć częstość odległych powikłań po chemio- i radioterapii, włącznie z wtórnymi nowotworami w tak młodej populacji chorych [5].

Opisanego chorego z rozpoznaniem PMBCL leczono według schematu stosowanego w Klinice Hematologii CMUJ od 2002 roku, tj. 8 cyklami R-CHOP-14 i, w zależności od odpowiedzi na leczenie ocenianej w badaniu PET-CT, kwalifikując go do uzupełniającej radioterapii śródpiersia lub leczenia drugiej linii z wykorzystaniem wysokodawkowanej chemioterapii (HDT, *high-dose therapy*), wspomaganej autologicznym przeszczepieniem macierzystych komórek krwiotwórczych (HSCT, *hematopoietic stem cell transplantation*). Chory po otrzymaniu 8 cykli R-CHOP-14 i radioterapii śródpiersia pozostaje w CR choroby 2 lata i 4 miesiące od zakończenia leczenia.

W ostatnich latach pojawiły się doniesienia o możliwości wystąpienia opóźnionej neutropenii po leczeniu rytuksymabem, definiowanej jako bezwzględna liczba neutrofilów poniżej  $1500/\mu\text{L}$ , pojawiająca się po co najmniej 4 tygodniach od zakończenia immunoterapii. Jej częstość, według różnych doniesień, jest oceniana na 5,6–27,3%, a średni czas trwania na 1–4 tygodni. Czynniki predysponujące do wystąpienia neutropenii po stosowaniu rytuksymabu, jak również patogeneza tego zjawiska, wciąż nie są dobrze poznane. Wyodrębnia się dwie grupy chorych, u których częściej zaobserwowano neutropenię po podaniu rytuksymabu, w tym chorych po chemioterapii dużymi dawkami metotreksatu i podanych HDT wspomaganej HSCT [7].



Przedstawiono przypadki przejściowej neutropenii po przeszczepieniu szpiku kostnego, w czasie której nie obserwowano zwiększonej częstości powikłań infekcyjnych [8]. W większości przypadków neutropenia była odwracalna po zastosowaniu dużych dawek G-CSF lub czynnika pobudzającego kolonie granulocytów i makrofagów (GM-CSF, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) [9, 10], choć opisywano także przypadki neutropenii odpornej na zastosowane czynniki wzrostowe [11, 12]. W powstawaniu neutropenii po leczeniu rytuksymabem przyjmuje się udział mechanizmów autoimmunizacyjnych, związanych z proliferacją limfocytów T z obecnością olbrzymich ziarnistości (T-LGL, *T-large granular lymphocyte*), wykazujących ekspresję CD3+CD8+CD57+CD28-CD8+CD4+ [13–15]. Ponadto, indukcja apoptozy neutrofilów przez interakcje Fas/Fas ligand [16], antyneutrofilowy wpływ autoprzeciwciał syntetyzowanych w wyniku odbudowy immunologicznej po deplecji limfocytów B wywołanej przez rytuksymab [11] oraz mielosupresyjny wpływ czynnika martwicy nowotworów uwalnianego po zastosowaniu chemioimmunoterapii, również mogą prowadzić do neutropenii [17, 18]. Neutropenia indukowana rytuksymabem może wynikać także z nasilonej odbudowy limfocytów linii B po leczeniu i promocji limfopoety komórek B z wyparciem prawidłowej granulopoety ze szpiku kostnego. W szpiku kostnym chorych z neutropenią po stosowaniu rytuksymabu obserwowano zahamowanie dojrzewania na etapie promielocyta, podobnie jak w neutropenii wrodzonej i chorobie Kostmanna [7].

U opisywanego chorego neutropenia wystąpiła w 8. tygodniu po zakończeniu leczenia rytuksymabem i trwała około 4 miesiące. W tym czasie nie obserwowano powikłań infekcyjnych. Przejściowa odbudowa neutrofilów wystąpiła po podaniu G-CSF, a trwała normalizacja parametrów krwi obwodowej — po krótkotrwałej korynkosteroidoterapii. Choć podobny protokół leczenia zastosowano w Klinice Hematologii u 40 chorych z PMBCL, u żadnego z nich nie obserwowano tak długich okresów neutropenii po zakończonej terapii.

W diagnostyce różnicowej, oprócz neutropenii występującej po zastosowaniu rytuksymabu, należało wziąć pod uwagę neutropenię będącą skutkiem toksyczności radioterapii. Jednak czas wystąpienia i trwania neutropenii po zakończonym leczeniu, opisywane zmiany w szpiku kostnym i subpopulacji limfocytów krwi obwodowej, a także normalizacja liczby leukocytów we krwi obwodowej po zastosowanej korynkosteroidoterapii bardziej sugerują immunologiczne tło neutropenii indukowanej immunoterapią niż odczyn popromienny. Mechanizm

powstania neutropenii nie został do końca wyjaśniony, chociaż zahamowanie dojrzewania komórek mieloidalnych na etapie promielocyta i mielocyta, zwiększony odsetek limfocytów CD8+ oraz obecność form apoptotycznych w szpiku kostnym mogą sugerować rolę limfocytów cytotoksycznych w patogenezie tego powikłania.

## Piśmiennictwo

1. Savage K.J., Al-Rajhi N., Voss N. i wsp. Favourable outcome of primary mediastinal large B-cell lymphoma in a single institution: the British Columbia experience. *Ann. Oncol.* 2006; 17: 123–130.
2. Todeschini L., Secchi S., Morra E. i wsp. Primary mediastinal large B-cell lymphoma (PMLBCL): long-term results from a retrospective multicentre Italian experience in 138 patients treated with CHOP or MACOP-B/VACOP-B. *Br. J. Cancer* 2004; 90: 372–376.
3. Zinzani P.L., Martelli M., Bertini M. i wsp. Induction chemotherapy strategies for primary mediastinal large B-cell lymphoma with sclerosis: a retrospective multinational study on 426 previously untreated patients. *Haematologica* 2002; 87: 1258–1264.
4. Martelli M. Rituximab does not improve survival of patients treated with M/VACOP-B plus radiotherapy in primary mediastinal B-cell lymphoma. *ICML, Lugano 2008*; 044 [abstrakt].
5. Dunleavy K., Pittaluga S., Janik J. The addition of rituximab to dose-adjusted (DA-EPOCH) obviates the need for radiation in the treatment of PMBL: a prospective study of 58 patients. *ICML, Lugano 2008*; 043 [abstrakt].
6. Vassilakopoulos T.P., Pangalis G., Galani Z. Addition of rituximab to CHOP greatly improves the outcome of patients with primary mediastinal large B-cell lymphoma. *ICML, Lugano 2008*; 354 [abstrakt].
7. Tesfa D., Gelius T., Sander B. i wsp. Late-onset neutropenia associated with rituximab therapy: evidence for maturation arrest at the (pro)myelocyte stage of granulopoiesis. *Med. Oncol.* 2008; 25: 374–379.
8. Christopheit M., Haak U., Behre G. Late-onset neutropenia following viral bone marrow depression after rituximab therapy. *Ann. Hematol.* 2008; 87: 761–762.
9. Voog E., Brice P., Cartrin J. i wsp. Acute agranulocytosis in three patients treated with rituximab for non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2001; 98: 236b.
10. Voog E., Morschhauser F., Solal-Celigny P. i wsp. Neutropenia in patients treated with rituximab. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348: 2691–2694.
11. Rose A.L., Forsythe A.M., Maloney D.G. i wsp. Agranulocytosis unresponsive to growth factors following rituximab *in vivo* purging. *Blood* 2003; 101: 4225–4225.
12. Hofer S., Viollier R., Ludwig C. i wsp. Delayed-onset and long-lasting neutropenia due to rituximab. *Swiss Med. Wkly.* 2004; 7: 79–80.
13. Papadaki T., Stamatopoulos K., Anagnostopoulos A., Fassas A. Rituximab-associated immune myelopathy. *Blood* 2003; 102: 1557–1558.
14. Papadaki T., Stamatopoulos K., Stavroyianni N., Paterakis G., Phisphis M., Stefanoudaki-Sofianatou K. Evidence for T-large granular lymphocyte-mediated neutropenia in rituximab-treated

- lymphoma patients: report of two cases. *Leuk. Res.* 2002; 26: 597–600.
15. Papadaki T., Stamatopoulos K., Tsompanakou T. A spectrum of immunohematological sequelae developing in rituximab-treated lymphoma patients in a setting of T-large granular lymphocyte (T-LGL) mediated immune myelopathy. *Blood* 2002; 100: 353–354.
  16. Liu J.H., Wei S., Lamy T. Chronic neutropenia mediated by fas ligand. *Blood* 2000; 95: 3219–3222.
  17. Bienvenu J., Chvetzoff R., Salles G. i wsp. Tumor necrosis factor alpha release is a major biological event associated with rituximab treatment. *Hematol. J.* 2001; 2: 378–384.
  18. Voog E., Bienvenu J., Warzocha K. i wsp. Factors that predict chemotherapy-induced myelosuppression in lymphoma patients: role of the tumor necrosis factor ligand-receptor system. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 325–331.